Beitrag zur Kenntnis der Antifermente und Fermente des Blutes.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Königl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Moses Ehrenreich

aus Bad Kissingen.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Verlagsdruckerei Würzburg.

1904.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Referent: Herr Geh. Medic.-Rat Prof. Dr. von Leube.

Dem Andenken

meiner teuren Eltern

gewidmet.

Seitdem Morgenroth[1]) zuerst die Darstellung von Antilab gelungen ist, sind zu einer ganzen Reihe der bekannten Fermente die Antikörper dargestellt worden. Es fand sich dabei, dass einerseits ein grosser Teil der Antifermente schon normalerweise in vielen Blutseris vorhanden ist, deren Antifermentgehalt durch Behandlung des Tieres mit dem betreffenden Ferment gesteigert werden kann, und dass es anderseits auch möglich ist, durch dieselbe Methode die Antifermente von ganz körperfremden Fermenten im Blut darzustellen. (Zymase[2]), Endotryptase[3]). Antitrypsin wurde zuerst von Achalme[4]) dargestellt, nachdem schon vorher von verschiedenen Seiten[5]) ein hindernder Einfluss von Serum und Organsaft auf die Trypsinverdauung konstatiert worden war, den man auf die Anwesenheit von Antitrypsin im normalen Serum zurückführte.

Eine Bestätigung dieser Ansicht ergaben auch die Versuche von Karl Glaesner[6]), der nachwies dass die antitryptische Wirkung eines Blutserums sich am stärksten äussert gegenüber dem von derselben Tierart durch Extraktion des Pankreas gewonnenen Trypsin. Damit wird die Tatsache erklärt, dass das vom Darm resorbierte Trypsin nicht im Stande ist, seine verdauende Wirkung auf die Eiweiss-

---

1) Centr. Bl. f. Bacteriologie 26 349.

2) Jacobsohn, Münch. med. W. 1903 Seite 2171.

3) M. Hahn, Münch. med. W. 1903 S. 2172.

4) Annal. Pasteur XV. 737 (1901).

5) Literatur bei Oppenheimert: Die Fermente und ihre Wirkungen, Leipzig 1903.

6) Beiträge zur chemischen Physiol- und Pathologie, Band IV, Heft 1/2.

körper des Blutes und des Körpers auszuüben, da es von dem zirkulierenden Antitrypsin sofort abgesättigt wird, Achalme führte mit seinem Antitrypsin auch den biologischen Nachweis der Verschiedenheit des Trypsins vom Papayotin, einem proteolytischen, trypsinähnlichen Ferment, pflanzlichen Ursprungs. Er zeigte nämlich, dass das Antitrypsin auf den Ablauf der Papayotinverdauung absolut keinen hemmenden Einfluss ausübt, ebenso wie Morgenroth auf diesem Wege die Verschiedenheit des tierischen Labs von dem pflanzlichen Labferment Cynarase nachwies. Achalme versuchte auch, Meerschweinchen gegen Papoyotin zu immunisieren, was ihm jedoch nicht gelang, wie überhaupt die Darstellung der Antifermente im allgemeinen bedeutend schwieriger ist, als die von Antitoxinen, worauf ich weiter unten noch zurückkommen werde. Da nun die Gewinnung eines Antipapayotins sowohl für die Frage der etwaigen Identität von Papayotin und Trypsin, sowie für die Ergänzung mancher Punkte der Lehre von den Antifermenten von Interesse sein musste, erschien es geboten, die wenigen dahinzielenden Versuche Achalmes durch methodische Untersuchungen zu ergänzen, da trotz der zu erwartenden Schwierigkeiten theoretisch die Möglichkeit der Erzeugung von Antipapayotin nicht unmöglich schien. Die Erreichung dieses Zieles gelang jedoch mir ebenfalls nicht, obwohl die Versuche während längerer Zeit und mit möglichster Sorgfalt fortgesetzt wurden. Trotz dieses negativen Resultats scheint es mir nicht überflüssig, die diesbezüglichen Versuche genauer mitzuteilen, da einerseits zur Zeit vielfach die Darstellung der noch fehlenden einzelnen Antifermente versucht wird, anderseits aber über derartige Versuche mit Papayotin noch keine eingehenden Beobachtungen veröffentlicht wurden.

Benützt wurde das Papayotin Merk, das sich als sehr wirksam erwies. Die Sterilisierung desselben wurde auf verschiedene Weise versucht. Zuerst wurde die Lösung 24 Stunden mit Chloroform versetzt stehen lassen und dann

das Chloroform durch zweistündiges Stehen bei 37° C. verjagt. Später versuchte ich, die Lösung durch Tonfilter zu filtrieren, kehrte aber bald zur ersteren Methode wieder zurück, nachdem ich sie dahin modifiziert hatte, dass die frische Papayotinlösung mit Chloroform in grösserer Menge als es sich löste versetzt, mehrere Wochen gut verkorkt im Zimmer aufbewahrt wurde. Dadurch wurden die ursprünglich trüben Lösungen vollkommen klar und steril, wie ich mich durch Plattengiessen öfters überzeugte. Vor dem Gebrauch wurde das Chloroform durch 1stündiges Stehen bei 37° verjagt. Auch das Tonfilter gibt klare und sterile Lösungen, Doch ist seine Anwendung viel umständlicher, auch arbeiten dieselben durchaus nicht gleichmässig. Die frische Papayotinlösung ist allerdings etwas wirksamer als die geklärten Lösungen, wie ich mich durch die weiter unten zu erwähnende quantitative Methode überzeugte. Ich wandte späterhin nur die durch langes Stehen geklärte und sterilisierte Lösung an.

Zur Einverleibung des Papayotin wurde nicht versucht der Weg der Darreichung per os und die direkte Einspritzung in die Blutbahn, da beide nach den Versuchen von Rossbach[1]) von vornhernein aussichtslos erschienen.

Die Darreichung per Klysma analog dem Vorgehen Hildebrandts[2]) beim Immunisieren mit Emulsin wurde bei zwei Kaninchen versucht. Das erste erhielt 0,5g Papayotin in 15 ccm physiol. Kochsalzlösung in den Mastdarm gegossen, worauf der Anus zugeklemmt wurde. Das Tier starb nach 15 Minuten unter heftigen Krämpfen und es fand sich eine starke Injektion der Serosa sowie ein wässeriges blutiges Exsudat in der Peritonealhöhle. Das zweite Tier wurde mit geringeren Dosen behandelt, doch hatte dasselbe dabei anscheinend so heftige Schmerzen, dass dieser Weg

1) Zeischrift f. klin. Medicin 1883 527.

2) Virchows Archiv Bd. 131.

bald wieder verlassen wurde. Ein Beweis für die starken dabei auftretenden Koliken war der Umstand, dass das Tier einmal nach einem Einlauf ca. 60—70 Scybala im Gesamtgewicht von 80 g verlor.

Das Hauptgewicht wurde auf die subcutane und die intraperitoneale Injection gelegt.

Bei den subcutanen Injectionen zeigten sich die Erscheinungen der Hautverdauung, wie sie von Rossbach und Achalme beschrieben wurden. Bei sorgfältiger Handhabung der Asepsis treten Abcesse äusserst selten auf. Durch die ausgedehnte Hautverdauung findet die Anwendung der subcutanen Injectionen jedoch bald ihre Grenze, indem eben bald der grösste Teil der Haut verdaut ist. Das ist um so bedauerlicher, als auf subcutanem Wege noch die relativ grössten Dosen vertragen wurden (0,1—0,3). Uebrigens war auf diesem Wege weder ein Antiserum noch die geringste Gewöhnung zu erzielen. Im Gegensatz zur Angabe Rossbachs sah ich jedoch, dass sich die Tiere wieder vollständig erholen können, selbst wenn der grösste Teil der Haut verdaut ist, und dass selbst die Hautveränderungen wieder vollständig rückgängig werden können.

Zu den intraperitonealen Injectionen wurde streng auf möglichste Asepsis geachtet. Es fand sich, dass im allgemeinen 0,05 g in 5 ccm physiol. Kochsalzlösung diejenige Dosis ist, die von einzelnen Tieren gerade noch vertragen wird, während andere daran zugrunde gehen Dabei hatten die Tiere nach der Einspritzung heftige Streckkrämpfe, die auch stets noch bei denjenigen Tieren auftraten, die schon seit längerer Zeit behandelt waren. Ich versuchte zunächst, von der Dosis 0,05 ausgehend die Kaninchen allmählich an grössere Gaben zu gewöhnen; doch starben sie gewöhnlich schon nach der Wiederholung dieser Dosis oder geringer Steigerung derselben. Alsdann gab ich einem Tier längere Zeit hindurch Mengen, die unterhalb von 0,05 lagen, ohne auf diese Weise eine Immunität oder Gewöhnung erreichen

zu können. Schliesslich begann ich mit ganz winzigen Dosen, die noch keine Krämpfe hervorriefen (0,001) und steigerte die Gaben nur ganz allmählich. Trotzdem traten schon bei 0,005 die Krämpfe wieder auf Es wurde nun langsam die Dosis gesteigert und erst bei der 16. Einspritzung die gefährliche Gabe von 0,05 erreicht. Diese wurde viermal hintereinander gegeben und dann auf 0,065 gestiegen. Wegen der darauf erfolgenden, starken Reaktion wurde zunächst wieder auf 0,05 zurückgegangen und alsdann 0,06 eingespritzt. Darauf starb das Tier. Es war also trotz 26 vorausgegangener Injectionen nicht die geringste Gewöhnung eingetreten, sodass auch die kleinste tötliche Dosis nicht überschritten werden konnte. Ebensowenig liess sich bei den anderen intraperitoneal behandelten Tieren ein Antiserum oder Gewöhnung erzielen

Ferner wurde einem Tiere, das längere Zeit subcutan behandelt war, 0,05 intraperitoneal eingespritzt, worauf es starb. Ebenso zeigte ein anderes Tier, das mit mehrfachen intraperitonealen Einspritzungen behandelt worden war, bei der darauf folgenden subkutanen Darreichung die Hautveränderung in ebenso ausgedehntem Masse wie nicht vorbehandelte Tiere.

Als Resultat aller dieser Versuche ergibt sich demnach, dass trotz langdauernder Darreichung von Papayotin teils subcutan, teils intraperitoneal, teils durch Combination beider Methoden weder Antikörper im Blute auftraten, noch irgendwie Gewöhnung eintrat. Die Ursache dieser auffallenden Erscheinungen kann nicht in einer mangelnden Resorption der Papayotinlösung gesucht werden; denn in dem zeitweilig entnommenen Blute wurde öfters das Auftreten einer deutlichen Präcipitinreaktion konstatiert. Es war demnach eine Antikörperbildung gegen diejenigen pflanzlichen Eiweissstoffe eingetreten, an die das Papayotin gebunden ist, nicht aber gegen dieses selbst.

Bei den Injectionen wurde sowohl das Gewicht als der Urin der Tiere genau kontrolliert. Es wurde darauf geachtet, dass die Tiere von Anfang bis zu Ende nicht wesentlich an Gewicht verloren, und wenn ein Gewichtsverlust eintrat, wurden die Injectionen eingestellt, bis sich das Tier wieder erholt hatte, da es als Regel gilt, dass nur kräftige Tiere genügend imstande sind, Antikörper zu bilden. Im Urin fand sich öfters nach den Injectionen Eiweiss, das aber stets bald wieder verschwand Es wurde öfters versucht, im Harn etwa ausgeschiedenes Papayotin nachzuweisen, indem der Harn unter Zugabe von Chloroform mit einer Fibrinflocke in den Brutschrank gestellt wurde. Es konnte jedoch niemals eine Verdauung derselben konstatiert werden. Ferner wurde im Urin öfters auf Albumosen gefahndet zu Zeiten, wo sich die Hautverdauung auf dem Höhepunkt befand, da die etwa gebildeten Albumosen bei ihrer Resorption im Urin erscheinen mussten. Die Untersuchung wurde vorgenommen, nach der von Krehl und Mathes[1]) angegebenen Methode der Ausfällung durch Alkohol und Anstellung der Biuretreaktion mit dem aufgelösten Rückstand. Sie war stets negativ. Zucker wurde im Urin zweimal beobachtet. Die Untersuchung darauf wurde in dem einen Fall durch die dickflüssige Beschaffenheit des Urins veranlasst, und musste dabei der Zuckergehalt ganz exorbitant hoch gewesen sein, da die mit dem stark verdünnten Urin angestellte Gärungsprobe in kurzer Zeit zur vollständigen Verdrängung der Flüssigkeit führte. Es handelte sich um ein Tier, das 0,05 Papayotin intraperitoneal erhalten hatte. Jn dem anderen Falle handelte es sich um den post mortem entnommenen Urin eines ebenfalls intraperitoneal behandelten Tieres, der aber nur einen schwächeren Ausschlag bei der Trommer'schen Probe ergab. Die Ursache dieser Erscheinung war nicht zu eruieren, die künstliche Erzeugung dieser Glycosurie wurde ohne Erfolg versucht. Zur quantita-

[1]) Arch. f. Experim. Path. u. Pharmakol. Bd. 40.
cfr. auch Martin. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 40.

tiven Untersuchung reichte in beiden Fällen die Menge des Urins nicht aus.

Die Sektion der gestorbenen Kaninchen ergab stets das gleiche Bild. Bei den subcutan behandelten fanden sich keine Veränderungen an den inneren Organen. Bei den intraperitoneal eingespritzten zeigte sich stets eine Reihe von alten und einige frische Blutungen in das Peritoneum, sowie eine mässige Menge serösen, blutig tingirten Exsudats.

Im folgenden gebe ich von zweien der Kaninchen die genaueren Daten über Zahl und Menge der Injectionen an, wobei ich alle sonstigen Angaben über Urin und Gewicht weglasse, da für sie das oben gesagte gilt. Im Ganzen wurden neun Kaninchen für die Untersuchungen verwandt.

Kaninchen VII, Gewicht 2060 g.

22. XII.	03	subcutan	0,01	in	1 ccm	physiol.	Na Cl	Lösung
24. XII.		„	0,02	„	„	„	„	„
27. XII.		„	0,04	„	„	„	„	„
1. I.	04	„	0,04	„	„	„	„	„
3. I.		„	0,05	„	„	„	„	„
6. I.		„	0,065	„	„	„	„	„
11. I.		„	0,1	„	2 ccm	„	„	„

Es tritt ein kleiner Abscess auf.

18. I.	04	subcutan	0,1	„	„	„	„	„
23. I.		„	0,1	„	„	„	„	„

Es tritt abermals ein Abscess auf, der nur sehr langsam heilt. Nach 5—6 Wochen war das Tier wieder völlig hergestellt, auch die verdaute Haut zum Teil geheilt. Es wurde jetzt intraperitoneal behandelt.

3. III.	04	intraperitoneal	0,01	in	1 ccm	physiol.	Na Cl	Lösung
21. III.		„	0,02	„	2 „	„	„	„
25. III.		„	0,03	„	3 „	„	„	„
29. III.		„	0,04	„	4 „	„	„	„
2. IV.		„	0,04	„	4 „	„	„	„
6. IV.		„	0,05	„	5 „	„	„	„

6. IV. Exitus.

Kaninchen VIII, Gewicht 1950 g.

29. XII,	03	intraperitoneal	0,005	in	1 ccm	physiol.	Na Cl	Lösung
4. I.	04	„	0,001	„	„	„	„	„
7. I.		„	0,002	„	„	„	„	„
11. I.		„	0,005	„	„	„	„	„
13. I.		„	0,0075	„	„	„	„	„
18. I.		„	0,0075	„	„	„	„	„

23. I.	04 intraperitoneal	0,01	in	1	ccm	physiol.	Na Cl	Lösung
26. I.	"	0,013	"	1,3	"	"	"	"
29. I.	"	0,02	"	2	"	"	"	"
2. II.	"	0,02	"	2	"	"	"	"
9. II.	"	0,04	"	4	"	"	"	"
15. II.	"	0,025	"	2,5	"	"	"	"
21. II.	"	0,02	"	2	"	"	"	"
27. II.	"	0,02	"	2	"	"	"	"
3. III.	"	0,04	"	4	"	"	"	"
16. III.	"	0,04	"	4	"	"	"	"
21. III.	"	0,05	"	5	"	"	"	"
25. III.	"	0,05	"	5	"	"	"	"
29. III.	"	0,05	"	5	"	"	"	"
2. IV.	"	0,05	"	5	"	"	"	"
6. IV.	"	0,065	"	6,5	"	"	"	"
23. IV.	"	0,05	"	5	"	"	"	"
29. IV.	"	0,06	"	6	"	"	"	"
5. V.	Exitus.							

Der post mortem entnommene Urin ergibt einen positiven Ausschlag der Trommer'schen Probe.

Über Schwierigkeiten und Misserfolge bei dem Versuch Antifermente zu gewinnen, haben mehrere Autoren berichtet. So zunächst, wie oben mitgeteilt, Achalme[1]) mit dem Antipapayotin, ferner Landsteiner[2]) mit Antitrypsin, ausserdem Morgenroth[3]), Sachs [3]), Jacobsohn[4]) Hahn[5]). Zur Erklärung dieser Misserfolge wurde verschiedenes vorgebracht. Morgenroth[3]) nimmt an, dass es sich bei den Fermenten um normale Bestandteile des Organismus handle, bei deren Zuführung vorgebildete Regulationsvorgänge in Aktion treten, während die Toxine körperfremde Substanzen seien, bei deren Einführung keinerlei Hemmung der Antitoxinbildung eintrete. Nach Morgenroth's Ansicht wären also Antikörper um so leichter und in desto grösserer Menge zu erzeugen, je fremder

---

1) Achalme l. c.

2) Landsteiner, C. Bl. f. Bact. Bd. 27 S. 357.

3) Cit. nach Hahn l. c.

4) l. c.

5) l. c.

der betreffende Körper dem Organismus sei. Dieser Erwägung widersprechen jedoch die Tatsachen, indem sich, wie von Hahn [1]) gegen diese Erklärung eingewendet wird, gerade zwei der körperfremdesten Fermente, die zudem, wie die Toxine, pflanzlichen Ursprungs sind, in Bezug auf Antikörperbildung sehr ablehnend verhalten. Ich kann dasselbe vom Papayotin bestätigen, das ebenfalls körperfremd und pflanzlichen Ursprungs ist. Hahn gibt eine andere Erklärung. Er sucht den Grund für die geringen Erfolge, die bisher bei einer Reihe von Enzymbehandlungen erzielt wurden, in mangelhafter Resorption einerseits und Bindung und Verbrauch der Fermente durch zirkulierende Kohlehydrate und Eiweissstoffe anderseits. Diese beiden Faktoren mögen sicherlich mitwirken, doch liegt nach meiner Ansicht die Hauptursache trotzdem in der mehr oder minder grossen Körperfremdheit der Fermente, aber nicht im Sinne Morgenroths, sondern gerade umgekehrt. Ich meine, dass ein Organismus um so schwieriger Antikörper bildet, je körperfremder der betreffende Stoff ist, der ihm zugeführt wird. Denn ich halte die Toxine nicht für die körperfremdesten, sondern für die am wenigsten körperfremden von allen jenen Stoffen, auf die der Organismus überhaupt mit der Bildung von Antikörpern antworten kann. Diese Ansicht ergibt sich aus den herrschenden Anschauungen über das Zustandekommen der Immunitätsreaktion. Nach Ehrlich nehme ich an, dass es sich bei der Antikörperbildung um eine Sekretion des Zellprotoplasma handelt, die durch fortgesetzte stärkere Reizung gewaltig gesteigert werden kann, ebenso wie alle Drüsen um so reichlicher scernieren, je mehr sie in Anspruch genommen werden. Die Fähigkeit der Antikörperbildung gegen einen gewissen Stoff kann nur entweder phylogenetisch oder im Verlauf der Eniwickelung des einzelnen Individuums erworben sein. Bei der Zuführung von Toxin handelt es sich meist um einen Stoff, der schon die Individuen der Ascendenz

[1]) l. c.

in grösserer oder geringerer Menge befallen hat, und der oft auch schon in geringen Mengen in den Körper des betreffenden Individuums eingedrungen ist, sei es durch Verunreinigung kleiner Wunden oder durch Contakt, Inhalation etc. An diese Attaquen ist das Protoplasma gewöhnt und reagiert darauf mit verstärkter Sekretion der betreffenden Antikörper. Oder, um es nach Ehrlich auszudrücken, das Protoplasma besitzt für die meisten derjenigen Bakteriengifte, gegen die es in der Ascendenz oft ankämpfen musste, fertige Receptoren, die es leicht im Übermass produzieren und ins Blut abstossen kann. Ebenso bei den Fermenten. Hier besitzt das Protoplasma fertige Receptoren für diejenigen Fermente, die es alltäglich zu neutralisieren hat. Wird nun ein solches Ferment im Übermass eingeführt, so z. B Trypsin oder Lab, so kann das Protoplasma relativ viel leichter Receptoren im Übermass bilden, als wenn ein ganz körperfremdes Ferment eingeführt wird, gegen das das Protoplasma erst neue Receptoren bilden muss. Tatsächlich wurden bisher die relativ grössten Mengen Antiferment, abgesehen von gewissen Bakterienfermenten, mit einem dem Körper wohlbekannten Ferment, dem Lab (Morgenroth) erzielt Als zweites Moment kommt wahrscheinlich noch in Betracht die mehr oder minder grosse Ähnlichkeit der haptophoren Gruppen der Fermente, sowie derjenigen der Toxine miteinander. Von ihnen hängt ja die Bildung der Antikörper ab. Man kann sich sehr gut vorstellen, dass das Protoplasma, wenn es neue Receptoren bilden muss, dieselben leichter und in grösserer Menge bilden kann, wenn die angreifenden haptophoren Gruppen denjenigen ähnlich sind, auf die das Protoplasma seit langem eingestellt ist, als wenn es sich um ganz ungewohnte haptophore Gruppen handelt. So würde sich die Tatsache, dass auch Toxine von Bakterien, die phylogenetisch und ontogenetisch selten den Körper befallen konnten, zu reichlicher Antitoxinbildung Anlass geben, sowie dass auch von den Bakterienenzymen relativ grosse Mengen der Anti-

enzyme zu erhalten sind, sehr leicht erklären, wenn man annimmt, dass alle von Bakterien stammenden, antikörperfähigen Stoffe eine gewisse Ähnlichkeit der haptophoren Gruppen besitzen. Dagegen scheinen bei den Fermenten grössere Verschiedenheiten der haptophoren Gruppen zu bestehen. So hat es Landsteiner[1]) wahrscheinlich gemacht, dass sogar die Trypsinarten der verschiedenen Spezies verschieden sind, wofür auch die Resultate Glaessners[2]) sprechen. Daher gelingt es oft nicht, mit dem Trypsin einer Art bei der anderen Art Antitrypsin darzustellen.

Demnach lässt sich das Gesagte wie folgt zusammenfassen: Receptoren können vom Zellprotoplasma um so schneller und reichlicher secerniert werden, je öfter der Organismus phylogenetisch und ontogenetisch in der Lage war, die betreffenden Receptoren bilden zu müssen. Neue Receptoren werden um so leichter gebildet, je ähnlicher sie denjenigen sind, auf die das Protoplasma bereits eingestellt ist.

Während dieser Immunisierungsversuche wurde gleichzeitig der Einfluss normalen Serums auf die Papayotinverdauung untersucht, teils des zu erhoffenden Antipapayotins wegen, teils um neues Material für die Frage der Identität von Trypsin und Papayotin zu gewinnen. Sind nämlich die beiden identisch, so war zu erwarten, dass das Antitrypin des normalen Serums auch die Papayotinverdauung hemmen würde, während diese Hemmung anderseits fehlen musste, wenn es sich um zwei verschiedene Substanzen handelt, ausgenommen den Fall, dass beide Fermente zufällig gleiche haptophore Gruppen besitzen. Solche Zufälle scheinen vorzukommen, wenigstens gibt Hahn[3]) an, dass normales Serum

---

1) l. c.
2) l. c.
3) l. c.

eine hemmende Wirkung auf das von ihm im Hefepresssaft gefundene tryptische Ferment Endotryptase geäussert habe. Beim Papayotin schien allerdings eine solche Hemmung nach den Resultaten *Achalmes* a priori unwahrscheinlich.

Zur Untersuchung wurden vier Gläschen mit gleichen Mengen 1 %iger Papayotinlösung und steigenden Mengen des zu untersuchenden Serums angesetzt und die Gesamtmenge mit physiologischer Kochsalzlösung gleich gross gemacht. Der Versuch präsentierte sich demnach folgendermassen:

a) 3 ccm	1 %	P.-Lösg.	+ 3 ccm	Serum	+ 0 ccm	ph. Kochs.-Lösg.	+ Fibrin
b) 3 „	1 %	„	+ 2 „	„	+ 1 „	„ „	+ „
c) 3 „	1 %	„	+ 1 „	„	+ 2 „	„ „	+ „
d) 3 „	1 %	„	+ 0 „	„	+ 3 „	„ „	+ „

Das Fibrin war frisch die Mengen gleich gross. Das Ganze wurde unter Chloroformzusatz bei 37 ° C. gehalten

Bei dieser Methode zeigten sich in Bezug auf die Verdauungszeiten so geringe Differenzen, dass dieselben objektiv nicht zu verwerten waren. Nur das Pferdeserum schien darin eine Ausnahme zu machen. Bei ihm enthielt das Gläschen a konstant noch grössere Fibrinflocken zur Zeit wo in Gläschen d sich das Fibrin bereits vollständig aufgelöst fand. Mehrmals wiederholt ergab dieser Versuch stets dasselbe Resultat. Demnach schien also das *Pferdeserum* auf die Papayotinverdauung *hemmend* einzuwirken.

Dies unerwartete Resultat liess die abermalige Untersuchung der anderen Sera mit genaueren Methoden wünschenswert erscheinen Es wurden daher die Versuche mit der von Fermi [1]) angegebenen Gelatinemethode wiederholt. Zu diesem Zweck wurden gleich weite Röhrchen mit möglichst dünner Gelatine bis zur gleichen Höhe gefüllt, und in strömendem Dampf sterilisiert. Ich benutzte im Winter 2 % Gelatine, die im ungeheizten Zimmer gehalten wurde, im Sommer stellte ich sämtliche Versuche im Eisschrank an, und genügte dazu 1,5 % Gelatin. Die Eisschranktemperatur beschränkt die

[1]) Fermi. Malys. Jahrbücher 592 (1892).

Enzymwirkung nur in ihrem zeitlichen Verlauf, was für meine Zwecke ganz erwünscht war. Die Gelatineröhrchen wurden mit denselben Mischungen von Papayotinlösung, Serum und phys. Kochsalzlösung versetzt, wie bei den ersten Versuchen. Nach 12—24 Stunden wurde dann konstatiert, wie weit die Verdauung vorgeschritten war. Man kann entweder die Höhe der verdauten Gelatinesäule messen, oder die Zeiten notieren, zu welchen in jedem Röhrchen die Gelatine vollständig verdaut ist. Diese Versuche nun, die mit verschiedenen Seris angestellt wurden, ergaben konstant dasselbe Resultat, auch mit Pferdeserum. Es fand sich nämlich stets zuerst die Gelatine des Röhrchen a vollständig verdaut, etwas später in b noch später in c und zuletzt in d. Der Zeitunterschied zwischen der vollständigen Verdauung der Gelatine in a und d betrug zwischen 6 und 12 Stunden. Dieser Versuch wurde mit folgenden Seris, darunter mit den meisten wiederholt gemacht: Serum vom Rind, Schwein, Kaninchen, Mensch, Hammel, Pferd, Gans, Huhn, Ente sowie vom neugeborenen Kind. Stets ergab sich das gleiche Resultat, womit bewiesen war, dass Zusatz von Serum die Papayotinverdauung beschleunigt.

Dies Ergebnis war insofern unerwartet als man nur erwarten durfte, dass das normale Serum die Papayotinwirkung nicht hemmen würde. Dass es dieselbe sogar beschleunigte, musste seinen besonderen Grund haben, weshalb die Sache weiter untersucht wurde. Zunächst wurde versucht, ob gewöhnliches Eieralbumin dieselbe Erscheinung hervorbringen könnte. Es zeigte sich jedoch, dass Eierweiss, das zur Hälfte mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt war, die Papayotinwirkung hemmte. Nun wurde weiterhin geforscht, ob vielleicht dem Blutserum an sich schon eine verdauende Wirkung zukommt, welche sich bei der Papayotinverdauung zu dieser hinzuaddiert. Es wurde also ein Gelatineröhrchen mit ca 6 ccm Kaninchenserum unter Chloroformzusatz beschickt. Dabei zeigte sich nun, dass die Gelatine im Verlauf einiger Tage

langsam aber stetig verdaut wurde. Ein Kontrollröhrchen mit physiol Kochsalzlösung zeigte nicht die geringste Verflüssigung der Gelatine. Der Versuch wurde öfters mit gleichem Resultat wiederholt, und gelang auch mit Menschen- und Pferdeserum, während er mit mehreren anderen Seris bisher nicht gelang (Huhn, Ente). Es musste demnach dem Blutserum verdauende Kraft innewohnen. Die ganze Art des zeitlichen Ablaufes dieser Verdauung, sowie die Tatsache, dass dabei sich feine Niederschläge bildeten, wie sie sich bei der Verdauung der Gelatine mit Trypsin und Papayotin auch zeigen, liess es wahrscheinlich erscheinen, dass es sich dabei um die Wirkung eines proteolytischen Fermentes im Blutserum handelt. Dies kann jedoch weder resorbiertes Pepsin noch Trypsin sein, da ersteres in dem alkalichen Blutserum nicht wirken kann, und letzteres durch das Antitrypsin des Blutes abgesättigt wird, wie man daraus schloss, dass es nur in Spuren im Harn erscheint. Ich bin daher der Ansicht, dass es sich dabei um ein besonderes proteolytisches Ferment des Blutserums handelt.

Dieser bisher noch nicht erhobene Befund schliesst sich den Ergebnissen der neueren Forschungen über das Vorkommen von Fermenten im Körper vollkommen an. Denn seit den Untersuchungen von Salkowski[1]) über die Autolyse der Gewebe wissen wir, dass sich post mortem in fast sämtlichen Organen des Körpers proteolytische Enzyme finden, deren Wirkung sich eben in der Autolyse äussert. Fr. Müller[2]) wies ein sehr starkes Ferment in der pneumonischen Lunge und im Eiter nach, das sogar imstande war, Fibrin aufzulösen, und das beim Zerfall der Leucocyten frei wurde. Dazu war das von mir im Blute angenommene allerdings nicht kräftig genug, obwohl ich es mehrfach versuchte. 30 g Serum konnten

---

1) Litt. bei Oppenheimer: Die Fermente etc. pg. 142.

2) Verh. d. naturf. Gesellsch. Basel XIII. 308, sowie XX. Congr. für innere Medizin, Wiesbaden 1902.

unter Chloroformzusatz eine Fibrinflocke während 3 wöchentlicher Einwirkung im Brutschrank nicht lösen.

Über die Herkunft dieses Ferments lässt sich vorerst nichts aussagen, vielleicht ist es identisch mit dem von Fr. Müller gefundenen, und stammt von den Leucocyten des Blutserums. Ob tatsächlich ein autolytisches Enzym vorliegt, müssen weitere Versuche lehren.

Es wurde weiterhin untersucht, mit welcher Fraktion des Serumeiweiss das Ferment ausfällt. Zu diesem Zweck wurden 30 ccm Menschenserum mittels gesättigter neutraler Ammonsulfatlösung auf $^1/_3$ Sättigung gebracht, das ausfallende Fibrine + Eglobulin abfiltriert, das Filtrat sodann auf Halbsättigung gebracht und das ausfallende Pseudoglobulin wiederum abfiltriert, und schliesslich das Serumalbumin durch Sättigung des Filtrats mit Ammonsulfat in Substanz gewonnen. Die Rückstände der Filter wurden gewaschen mit Ammonsulfatlösung der entsprechenden Concentration, und hierauf in je 30 ccm destil. Wassers aufgelöst. Die Lösungen wurden dann in die Gelatineröhrchen gegeben. Es zeigte sich nach 1 Tag, dass in sämtlichen Röhrchen die Gelatine kuppenförmig ausgehöhlt war, was auf Wirkung des Ammonsulfat zurückzuführen war, denn das Gleiche zeigte sich in einem zur Kontrolle beigefügten Röhrchen mit verdünnter Ammonsulfatlösung. Nach einigen Tagen zeigte sich jedoch, dass in dem Kontrollröhrchen, sowie in dem Albumin enthaltenden Röhrchen der Auflösungsprozess auf gleicher Höhe stillstand, während er in den beiden anderen Gläschen stetig fortschritt in derselben Weise wie es bei reinem Serum beobachtet wird. Demnach fällt das vermutete Ferment mit den Globulingruppen des Serums aus. Derselbe Befund wurde erhoben, als der Versuch mit den durch Dialyse von den Ammonsulfat befreiten Fraktionen wiederholt wurde. Quantitativ zeigte manchmal die Pseudoglobulinfraktion eine stärkere Wirkung, zuweilen jedoch auch die Eu- + Fibrinoglobulinfraktion, was darauf schliessen lässt, dass das proteolyt. Ferment nicht an diese Eiweisskörper gebunden ist.

Das Vorhandensein eiweisslösenden Ferments im normalen Serum ist auch für dieLehre von den Antikörpern nicht uninteressant. Bekanntlichstellt man sich z. B den Vorgang der Haemolyse nach Ehrlich so vor, dass dabei zwei Körper beteiligt sind: der Aboceptor u. das Complement. Ersterer ist specifisch, ist infolgedessen nur in den betr. Immunserum vorhanden, und ist hitzebeständig, letzteres findet sich in jedem Serum und wird bei $^1/_2$stündiger Erwärmung auf 56° zerstört. Beim Zustandekommen der Hämolyse nun verbindet sich der Amboceptor einerseits mit der Blutzelle, anderseits mit dem Complement, wodurch er dieses in der Lage bringt, seine auflösenden Wirkungen auf die Blutzelle auszuüben. Analog verläuft der Vorgang bei der Bakteriolyse. Auch die Ansicht Buchners und mit ihm der französischen Schule (Metchnikoff, Bordet), welche die Theorien Ehrlichs in manchen Punkten bekämpfen, geht dahin, dass bei der Hämolyse Amboceptor sowie Complement zusammenwirken. Nur vindiciert Buchner dem Amboceptor bereits einen schädigenden Einfluss auf die Blutzelle, wodurch diese dem Angriff durch das Complement, das er Alexin nennt, erst zugänglich werden soll. Ferner nimmt Ehrlich eine Vielheit der Complemente im normalen Serum an, denen er die Fähigkeit der specifischen Bindung zuspricht, während das Alexin Buchners und seiner Schule für jede Species als einheitlich angenommen und ihm jede Specifität der Bindung abgesprochen wird[1]). Jedenfalls lässt sich jedoch die Wirkung sowohl des Ehrlich'schen Complements als des Buchner'schen Alexins am unbefangensten erklären, wenn man annimmt, dass es sich dabei um proteolytische Fermente des Blutes handelt Die meisten Forscher nehmen dies auch an, während anderseits dagegen eingewandt wird (Nolf, Gruber[2]), dass bei der Auflösung der Blutkörper durch hämolytische Sera keine Verdauungsprodukte entstehen. Immerhin lag es nahe, zu untersuchen, ob das

1) cfr. Oppenheimer: Die Fermente etc. pg. 167.

2) cit. nach v. Dungern: Die Antikörper, Jena 1903.

von mir im Blut gefundene proteol. Ferment mit dem Complement **Ehrlichs** und dem Alexin **Buchners** identisch sei. Von vornherein war dies durchaus unwahrscheinlich, da sich das Enzym als ziemlich resistent zeigte und durch Aussalzen sowie durch längere Aufbewahrung seine Wirkung nicht verlor, während das Complement bekanntlich gegen alle möglichen Einflüsse sehr empfindlich ist. Zur Untersuchung der Frage wurde die Eigenschaft des gefundenen Ferments, mit den Globulingruppen des Serums auszufallen, benutzt, und geprüft, ob das Complement sich ebenso verhält. Es wurde zu diesem Zweck ein Kaninchen mit 10 ccm mehrfach gewaschener Rinderblutkörperchen immunisiert und zugleich aus 30 ccm Pferdeserum die einzelnen Eiweissgruppen ausgesalzen, die gewonnenen Eiweisse dialysiert und in physiolog. Kochsalzlösung aufgelöst, sowie alsdann die verdauende Wirkung der Globuline auf Gelatine konstatiert. Dem Kaninchen wurde nach 14 Tagen durch die Carotis Blut entnommen, das sich als stark hämolytisch erwies. Es wurde nun das Immuniserum durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 56° inaktiviert und davon gleiche Mengen in eine Reihe von Gläschen gegeben, die je 1 ccm einer Rinderblutaufschwemmung von 1 ccm auf 20 ccm physiol. Kochsalzlösung enthielten. Ferner wurden gleiche Mengen folgender Zusätze zu den Gläschen gemacht:

zu Gläschen a) frisches Pferdeserum
„ „ b) Euglobulinlösung
„ „ c) Pseudoglobulinlösung
„ „ d) Serumalbuminlösung

Das Ganze wurde in den Brutschrank gestellt. Hämolyse trat nur bei a auf, woraus folgt, dass das Complement mit dem proteolyt. Ferment nichts zu tun hat. Leider starb das Tier sowie ein zweites immunisiertes kurz vor Beendigung dieser Arbeit, so dass es nicht mehr möglich war, das Experiment mit gewissen Modifikationen zu wiederholen. Doch wurde ferner festgestellt, dass normales Serum durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 56° seine verdauende Wirkung auf Gelatine

nicht einbüsst, was ebenfalls nicht anders erklärt werden kann, als dass das von mir im Blutserum gefundene proteolytische Ferment mit dem Alexin Buchners und dem Complement Ehrlichs nicht identisch ist.

Nach der Niederschrift dieser Arbeit finde ich bei Durchsicht der neuesten Literatur, dass inzwischen auch schon von anderer Seite das Vorhandensein eines proteolytischen Ferments im Blute konstatiert wurde. Es war mir leider nicht mehr möglich, die betreffenden Arbeiten im Original nachzulesen. Nach Referaten im biochemischen Centralblatt fanden Delezenne und Pozerski[1]), dass Blutserum + Chloroform Gelatine angreift. Ebenso soll es Kasëin angreifen. Die beiden Autoren führen diese Erscheinung auf Zerstörung des Antitrypsin durch das Chloroform zurück, was im hohen Masse unwahrscheinlich ist, da bisher eine Sprengung der Verbindung zwischen Ferment und Antiferment mittels Chloroform niemals beobachtet wurde. Ferner gibt Hedin[2]) an, dass er im normalen Ochsenserum ein schwaches proteolytisches Enzym gefunden habe, von dem er ebenfalls fand, dass es mit den Globulingruppen des Serums ausfällt.

[1]) Soc. Biol. 55, 325, sowie 55, 690.

[2]) Journ. of. Physiol. Vol. 30.

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Geh. Medicinalrat Prof. Dr. Ritter v. Leube für die gütige Übernahme des Referats, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski für seine freundliche Anleitung bei vorliegender Arbeit meinen besten Dank zum Ausdruck bringe.

Lebenslauf.

Ich, Moses Ehrenreich, bayerischer Staatsangehörigkeit, bin geboren zu Bad Kissingen am 30. April 1879 als Sohn des Lehrers Lazarus Ehrenreich daselbst. Nach Besuch der Realschule in Bad Kissingen, des K. Gymnasiums in Schweinfurt und des K. neuen und K. alten Gymnasiums zu Würzburg erwarb ich an letzterem im Juli 1899 das Reifezeugnis. Ich bezog darauf die Universität Würzburg, wo ich nach vier Semestern das Tentamen physicum ablegte. Während der folgenden drei Semester setzte ich meine Studien an der Universität Berlin fort, von wo ich alsdann nach Würzburg zurückkehrte. Daselbst unterzog ich mich der ärztlichen Staatsprüfung, und wurde am 13. Juni 1904 als Arzt approbiert. Vorstehende Dissertation habe ich unter Leitung des Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski verfasst.